

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 55-000307

(43)Date of publication of application : 05.01.1980

(51)Int.Cl.

C07D221/02
A01N 43/40
A61K 31/435
C12P 17/12
C12R 1/38

(21)Application number : 53-052261

(71)Applicant : IDEMITSU KOSAN CO LTD

(22)Date of filing : 02.05.1978

(72)Inventor : MURAKAMI NOBUO
YOSHIKAWA NOBUYUKI
HISATSUKA KENICHI

(54) PREPARATION OF 6-PHENYL-PICOLINIC ACID

(57)Abstract:

PURPOSE: To prepare 6-phenylpicolinic acid useful as a raw material for pesticides and pharmaceuticals advantageously from an inexpensive material, by culturing a 6-phenylpicolinic acid-producing bacteria which belong to the genus *Pseudomonas* in a culture medium containing biphenyl.

CONSTITUTION: Strains of the genus *Pseudomonas*, e.g. *Pseudomonas* SG9611 (FERM-P No.4469) are cultured in a culture medium containing biphenyl as a carbon source. The culture is centrifuged and the 6-phenylpicolinic acid is extracted from the supernatant liquid and purified.

USE: Useful as pesticides or their raw material, having a herbicidal action on weed arrowhead by flooding soil tests. Some acid derivatives have anti-inflammatory actions and are useful as a raw material for pharmaceuticals.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

⑬ 日本国特許庁 (JP)
⑭ 公開特許公報 (A)

⑪ 特許出願公開
昭55—307

⑤ Int. Cl.³ 識別記号 庁内整理番号
C 07 D 221/02 7306—4C
A 01 N 43/40 6347—4H
A 61 K 31/435 A B E 6617—4C
C 12 P 17/12 6760—4B
C 12 R 1/38 6760—4B

⑬ 公開 昭和55年(1980)1月5日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑤ 6-フェニルピコリン酸の製造法

① 特 願 昭53—52261
② 出 願 昭53(1978)5月2日
⑦ 発 明 者 村上信雄
千葉県君津郡袖ヶ浦町上泉1727
番地
⑧ 発 明 者 吉川信之

宇都宮市今泉町2565—271
⑦ 発 明 者 久塚謙一
千葉県君津郡袖ヶ浦町上泉1660
番地
① 出 願 人 出光興産株式会社
東京都千代田区丸の内3丁目1
番1号
④ 代 理 人 弁理士 久保田藤郎

明 細 書

1. 発明の名称

6-フェニルピコリン酸の製造法

2. 特許請求の範囲

シユードモナス属に属する6-フェニルピコリン酸生産菌をピフェニルを含有する培地に培養し、培養物から6-フェニルピコリン酸を採取することを特徴とする6-フェニルピコリン酸の製造法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は6-フェニルピコリン酸の製造法に関し、詳しくはシユードモナス属に属するバクテリアをピフェニルを含有する培地に培養し、培養物から6-フェニルピコリン酸を分離、採取することからなる6-フェニルピコリン酸の製造法に関するものである。

これまでに微生物による6-フェニルピコリン酸の生成に関しては全く知られておらず、該物質の化学的合成法に関してはケミカル・アブストラクト (Chemical Abstracts) 第49巻、第8953

頁b欄および第78巻、5820/tに報告が見られるが、その合成はきわめて複雑である。

本発明の目的は、これらの欠点を解消して安価な原料から6-フェニルピコリン酸を有利に製造する方法を提供することである。

本発明者らは、石油精製の際に多量に副生するピフェニルを利用することは省資源に寄与できること、また発酵法による物質生産は常温常圧で行なえるので省エネルギーにも寄与できることに着目し、ピフェニルを主栄養源とする培地を使用して比較的化学合成が困難な付加価値の高い物質を発酵法により製造すべく研究した。まず、各地の土壌よりピフェニル資化性菌を検索した後、それらの資化性菌の培養物中からピフェニル変換生成物を単離し、その構造を決定した。その結果、千葉県南部の土壌より単離したシユードモナス (Pseudomonas) 属の細菌が6-フェニルピコリン酸を生産することを見出し、本発明を完成したのである。

本発明の方法は、シユードモナス属に属する6-

フェニルピコリン酸生産菌をピフェニルを含有する培地に培養し、培養物から6-フェニルピコリン酸を採取することよりなる6-フェニルピコリン酸の製造法である。

本発明の方法に使用するシュードモナス属の菌株としては、ピフェニルを資化し、かつ培養物中に採取するのに十分な量の6-フェニルピコリン酸を生産する能力を有するものであればよく、たとえば本発明者らによつて土壌から分離されたシュードモナス SG 96 / 1 株（以下、本菌と称する。）がある。

本菌の菌学的性質は以下に示す通りである。

a. 形態的性質

(1) 形：桿菌

大きさ：0.6 ~ 1.0 × 1.3 ~ 5.5 μ

(2) 多形性：なし

(3) 運動性：あり

鞭毛（数）：極毛（1）

(4) 胞子：なし

(5) グラム染色：陰性

(8) クエン酸利用性：なし

(9) アンモニウム塩、硝酸塩の利用性：あり

(10) 色素の生成：なし

(11) ウレアーゼ：陰性

(12) オキシダーゼ：陽性

(13) カタラーゼ：陽性

(14) 生育温度 (°C)：14 ~ 41（最適30 ~ 35）

pH：4.4 ~ 8.7（最適6.0 ~ 8.5）

(15) 酸素に対する態度：好気性

(16) O-Fテスト：酸化的

(17) 糖類から酸の生成：下表参照

およびガスの生成 ガスの生成なし

* 30°Cで培養すると時間の経過と共に菌は長くなるが、25°Cで培養のときは不変である。

(6) 抗酸性：なし

b. 培養的性質

(1) 肉汁寒天平板：生育不良，円形，表面乳頭状，隆起あり，周辺菌花状，内容均質，やまびき色，湿光

(2) 肉汁寒天斜面：生育不良，糸状

(3) 肉汁液体：生育不良，かすかに白濁，小片浮遊，皮膜なし，沈渣あり

(4) 肉汁ゼラチン穿刺：生育不良，液化せず

(5) リトマスミルク：酸性，リトマス還元，不変

c. 生理的性質

(1) 硝酸塩の還元：なし

(2) 脱窒反応：陰性

(3) MRテスト：陰性

(4) VPテスト：陰性

(5) インドールの生成：なし

(6) 硫化水素の生成：微弱

(7) 澱粉加水分解能：あり

表 - 1

糖類から酸の生成
(Hugh and Leifson 法)

糖	酸の生成		生 育
	好氣的*	嫌氣的	
L-アラビノース	—	—	—
D-キシロース	+	—	+
D-グルコース	—	—	±
D-マンノース	±	—	±
D-フラクトース	+	—	+
D-ガラクトース	±	—	±
麦芽糖	+	—	+
シヨ糖	—	—	±
乳糖	—	—	±
トレハロース	—	—	—
D-ソルビット	—	—	—
D-マンニット	—	—	—
イノシット	—	—	±
グリセリン	±	—	±
デンプン	—	—	+

* pH 6.2 ~ 6.8

以上の菌学的性質をもとにしてバージーのマニユアル・オブ・ディタミネティブ・バクテリオロジー (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology) 第7版および第8版を検索した結果、本菌はシュードモナス (Pseudomonas) 属に属するものであることが判明した。なお、本菌はシュードモナス SG 96 / 1 株 (微生物保管委託申請書受理番号第4469号) として工業技術院微生物工業技術研究所に保管されている。

本発明においては、前記菌株のほかその人工ならびに自然変異株は勿論のこと、シュードモナス属に属しピフエニルから6-フェニルピコリン酸を生産する菌をすべて使用することができる。

本発明に使用する微生物の培養には、通常の培地成分として用いられている炭素源を使用できるが、ピフエニルを唯一もしくは主たる炭素源とすることが最適である。窒素源としては特に限定されることはないが、硝酸カリ、硝酸、硫酸、塩酸、燐安、ポリペプトン等を用いることができる。また無機塩類としてリン酸二ナトリウム、リン酸一

カリウム等を用い、微量金属として硫酸マグネシウム、塩化カルシウム、硫酸第1鉄等を用いることができる。さらに必要に応じて界面活性剤、消泡剤などを添加してもよい。培養方法としては、振盪培養法、深部通気攪拌培養法等の液体培地を使用する方法が適当である。培養温度は25～35℃、培養pHは中性付近、培養日数は2～5日間が適当である。

培養終了後、蓄積された6-フェニルピコリン酸は遠心分離等の操作により得られる溶液から抽出、精製することが可能である。精製に際しては溶媒抽出、濃縮、結晶化等の手段を単独または適宜組合せて行なうことができる。たとえば培養終了後、培養液の遠心分離により得られる上澄区分を減圧濃縮後、塩酸を加えてpHを3～4とし、ベンゼン-酢酸エチル混液等を用いて目的物質を抽出する。溶媒層を脱水後、濃縮乾固して得られた残渣から、結晶化により粗製の目的物質を得る。さらに、必要に応じて再結晶を行ない精製する。

このようにして得られた生産物質の物理化学的

性質は以下の通りである。

(1) 元素分析値

C : 72.6% , H : 4.3% , N : 6.5% ,
O : 16.6%

(2) 分子量

マスマスペクトルから199である。

(3) 融点

104～106℃

(4) 赤外線吸収スペクトル

第1図に示す通りである。

(5) 呈色反応

エーリッヒ反応は陰性

(6) 塩基性、中性、酸性の区別

酸性

(7) 物質の色

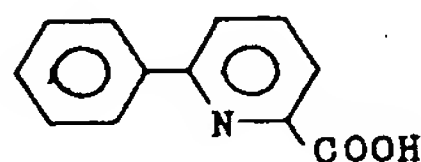
無色結晶

(8) 核磁気共鳴スペクトル

第2図に示す通りである。(ジアゾメタンによるメチルエステル化物を示す。)

以上の分析データより生産物質の構造は下記に

示される6-フェニルピコリン酸と同定した。



本発明によれば、石油精製に際して副生する未利用のピフエニルを有効に利用して6-フェニルピコリン酸を簡単に得ることができる。また、本発明によつて得られる6-フェニルピコリン酸は湛水土壌試験で雑草ウリカワに対して殺草性を示すので、農薬またはその原料として有用である。しかも、6-フェニルピコリン酸誘導体には抗炎症作用物質も見出されていることから、医薬原料としても有用である。

次に本発明の実施例を示す。

実施例1

シュードモナス属細菌 SG 96 / 1 株 (微工研菌寄第4469号) を、ピフエニル2%、ポリペプトン0.2%、リン酸二ナトリウム(12水塩)1%、リン酸一カリウム0.55%、硫酸マグネシウム(7水塩)0.02%、塩化カルシウム(2水

塩) 0.001%, 硫酸第1鉄(7水塩) 0.0001%, 酵母エキス 0.01%, コーン・ステープ・リカー 0.01%を含む pH 7.0 の培地 50 ml (500 ml 突起付変形フラスコ) に植菌し、30℃で3日間回転培養を行なった。このときの6-フェニルピコリン酸の生成量は350 mg/lであつた。なお、定量はジアザメタンでメチルエステルに誘導した後、ガスクロマトグラフィーにより行なった。

培養終了後、培養液 800 ml を遠心分離して得られた除菌培養液を150 ml に濃縮した。次いで、塩酸で pH 3.5 とした後、ベンゼン：酢酸エチル = 4：1 混液を用いて抽出を行なった。溶媒層を硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮乾固した。残渣に熱したエタノール：水 = 1：9 混液を加え、可溶部を別の容器に移しとり冷蔵した。析出した粗結晶を集め、エタノール-水素で再結晶を行ない、200 mg の精製6-フェニルピコリン酸を得た。

実施例 2

実施例 1 においてポリペプトン 0.2% の代わりに硝酸アンモニウム 0.2% を用いたこと以外は実施

例 1 と同様に培養を行なったところ6-フェニルピコリン酸の生成量は110 mg/lであつた。

実施例 3

実施例 1 においてポリペプトン 0.2% の代わりに硝酸カリウム 0.2% を用い、培養日数を5日間としたこと以外は実施例 1 と同様に行なった結果、6-フェニルピコリン酸の生成量は250 mg/lであつた。

4. 図面の簡単な説明

第1図は本発明により得られた6-フェニルピコリン酸の赤外線吸収スペクトル、第2図は核磁気共鳴スペクトルである。

特許出願人 出光興産株式会社

代理人 弁理士 久保田 藤 郎

第 1 図

波長 (μm)

